

HERPESVIRUS BOVINOS 1 y 5

C. L. Pidone¹, C. M. Galosi^{2, 3}, M. E. Etcheverrigaray³

¹Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias.
Universidad Nacional de Rosario

²Investigador Adjunto de CIC Provincia de Buenos Aires

³Cátedra de Virología. Facultad de Ciencias Veterinarias.
Universidad Nacional de La Plata

RESUMEN: los virus herpes bovino 1 y 5 (BHV-1 y 5) afectan naturalmente al bovino, especie en la que provocan diversas manifestaciones clínicas: rinotraqueítis, vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV), balanopostitis (IPB), conjuntivitis, aborto y encefalitis. La distribución de la infección es mundial, con incidencias que varían de un país a otro. En los últimos años se han conformado importantes grupos de investigación y los conocimientos acerca de estos virus se han visto incrementados. El presente trabajo es una revisión que actualiza dichos conocimientos y señala aquellas líneas de investigación de relevancia en la actualidad.

Palabras Clave: herpesvirus bovino 1, herpesvirus bovino 5

BOVINE HERPESVIRUS 1 AND 5

ABSTRACT: Bovine herpesvirus 1 and 5 (BHV-1 and 5) affect naturally to cattle, in which they cause a variety of clinical entities: rinotracheitis, infectious pustular vulvovaginitis (IPV), balanoposthitis (IPB), conjunctivitis, abortion and encephalitis. The distribution of the infection is worldwide, and the incidence vary from a country to another. Recently, it has been conformed important investigation groups around the world and the knowledge about these virus has been increased. The present work is a review that modernizes this knowledge and it points out those lines of investigation of relevance at the present time.

Key Words: bovine herpesvirus 1, bovine herpesvirus 5

Fecha de recepción: 08/06/99

Fecha de aceptación: 02/09/99

Dirección para correspondencia:

C. L. Pidone, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias. Av. Ovidio Lagos y Ruta 33 Casilda (S2170), Santa Fe, Argentina. Tel/Fax: (03464) 422050
E-mail: cpidone@fveter.unr.edu.ar

*Parte del presente trabajo corresponde a la Tesis «Estudio comparativo de cepas de virus herpes bovino-1 aisladas en la Argentina mediante patrones de restricción de ADN» (Pidone, C.L. Maestría en Salud Animal, Universidad de Buenos Aires, 1995).

INTRODUCCIÓN

El Herpesvirus bovino 1 (BHV-1), integrante de la familia Herpesviridae, afecta naturalmente al bovino, especie en la que provoca un amplio espectro de manifestaciones: rinotraqueítis (IBR), vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV), balanopostitis (IPB), conjuntivitis, aborto, enteritis y encefalitis.

La distribución de la infección es mundial y la prevalencia de reactores serológicos indica que prácticamente todos los bovinos mayores de tres años estuvieron en contacto con el virus. Se han registrado brotes de la forma respiratoria en EE.UU. y Canadá; la IPV es común en Europa y se notificaron importantes brotes de meningoencefalitis en Argentina y Australia (1), en EE.UU. (2), Canadá, Siria, Hungría, Uruguay, Italia y Brasil (3).

En Argentina, durante los años 1980-1982, un estudio demostró que BHV-1 se encuentra difundido en todo el país, con índices de prevalencia entre 36 y 66 %. También indicó que no existen diferencias significativas entre el ganado lechero y el de carne y que los índices de prevalencia aumentan progresivamente conforme aumenta la edad de los animales (1), hecho éste último que se repite en otros lugares del mundo (4).

Las epizootias clínicamente manifiestas como meningoencefalitis registradas en Australia por French en 1962 (5) y en California por Barenfus y col. (6) aproximadamente en igual período son las primeras descriptas atribuidas a este agente. Posteriormente se notificó de casos clínicos en la Argentina a partir de 1980 (7).

En relación a otros datos estadísticos, Blood y col describen para la IBR una morbilidad del 20-30 %, con una tasa de letalidad usual del 1 % (8, 9). En Argentina, en tanto, la edad de los animales con enfermedad nerviosa varía entre los 5 y 8 meses y, si bien es variable, se describe un brote con un 15 % de mortalidad (7).

A partir de los datos expuestos, es fácil comprender por qué el BHV-1 es uno de los miembros de la familia Herpesviridae de mayor interés en Medicina Veterinaria.

HERPESVIRUS BOVINOS 1 Y 5

Clasificación

El BHV-1 pertenece a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alfaherpesvirinae*, género *Varicellovirus* (10). Las distintas variantes antigénicas del BHV-1 no pueden ser distinguidas por métodos serológicos convencionales (virusneutralización). Sin embargo, han podido demostrarse diferencias entre polipéptidos y glicoproteínas por técnicas tales como la electroforesis en geles de poliacrilamida (7, 11), el estudio de

la reactividad de paneles de anticuerpos monoclonales (11) y el análisis de restricción del ADN viral (11, 12). Con esta información ha sido posible clasificar al BHV-1 en tres subtipos: BHV-1.1, BHV-1.2 y BHV-1.3, los cuales se asocian con IBR, IPV/IPB y enfermedad neurológica (encefalitis) respectivamente (13, 14). Este último subtipo (BHV-1.3), en base a estudios bioquímicos y genéticos, entre otros, actualmente se ha reclasificado y se denomina Herpesvirus bovino tipo 5 (BHV-5) (10, 15, 16). Sin embargo, esta clasificación de las cepas no refleja estrictamente un determinado organotropismo o cierto grado de virulencia (17).

El BHV-1.2 puede a su vez subdividirse en los subtipos BHV-1.2a y 2b en base a la digestión con enzimas de restricción y el perfil proteico. También el BHV-5 presenta una similar subdivisión: a y b (cepas N569 y A663 respectivamente), en base al comportamiento electroforético subtipo-específico de al menos una glicoproteína.

El estudio con anticuerpos monoclonales marca notorias diferencias entre los tipos 1 y 5 (3, 11). En este sentido, resultados obtenidos *in vitro* por cinética de neutralización mostraron que BHV-1.1 y BHV-1.2 tienen muchas semejanzas antigénicas, mientras que las diferencias que existen con la cepa nerviosa A663 (BHV-5) son significativas. A pesar de estas diferencias entre BHV-1.1 y BHV-5, la protección *in vivo* no se altera ante el desafío con el tipo nervioso (13).

En la actualidad, se clasifica al BHV-5 como integrante de la subfamilia *Alfaherpesvirinae* y no tiene género asignado (10).

Estructura del ADN: el genoma

La doble cadena lineal del genoma del BHV-1 posee aproximadamente de 135.000 a 140.000 pares de bases (pb). Alrededor del 10 % del ADN viral transporta en el extremo terminal derecho una «cola» de ADN celular, lo que indicaría que el ADN del BHV-1 puede recombinarse frecuentemente con el ADN de la célula (18). Engels y col estimaron un 85 % de similitud entre los BHV-1 y BHV-5 (17) y Seal y col estimaron más del 95 % de similitud entre los BHV-1.1 y 1.2 (19).

No se ha observado correlación entre el patrón de restricción enzimática y las manifestaciones clínicas (12, 17, 19, 20). Misra y col por esta razón sugieren que el tipo de enfermedad causada por el virus puede ser determinado más por la ruta de infección y las prácticas de manejo que por propiedades inherentes de ciertos tipos de BHV. House (1972), en esta línea, encontró que aislamientos genitales pueden causar infecciones respiratorias y viceversa (20).

Proteínas virales

Entre las más de 43-48 proteínas específicas virales se encuentran las glicoproteínas de la envoltura. Actualmente se acepta que el genoma del BHV-1 codifica para 4 glicoproteínas o complejos glicoproteicos principales, designados gI (gB), gII (gE), gIII (gC) y gIV (gD), algunos de los cuales presentan importante homología con sus pares del virus Herpes simplex (HSV) y del virus de la Pseudorrabia Porcina (PRV) (21).

La gIV (gD) es la glicoproteína más importante involucrada en la neutralización (18). Aparentemente es esta glicoproteína la responsable de la penetración del virus en la célula huésped (22) y también se le atribuye participación en la adsorción viral y la fusión celular (23). Por su parte gIII (gC) participa como responsable de la unión inicial del virus a receptores similares a la heparina sobre la superficie de las células permisivas (24) y la gI (gB) interferiría con proteínas celulares responsables de efectos citopáticos (ECP) ocasionados por la infección con el BHV-1 (25).

LATENCIA

Una vez que el BHV-1 ingresa al organismo y se multiplica en el sitio de infección se desplaza a través de prolongaciones nerviosas hacia los ganglios trigémino y sacro, en donde permanece en un estado latente. Esta ubicación del virus fue demostrada usando la técnica de hibridización *in situ* con sondas radioactivas (1, 18) y, en un trabajo experimental, con la inmunofluorescencia específica (26). Por otra parte, otros autores informan haber aislado el BHV-1 a partir de muestras de ganglio trigémino provenientes de bovinos adultos que no presentaban signos clínicos de enfermedad (27). Otros sitios en el organismo, como tejido epitelial y leucocitos, también se citan como lugares de acantonamiento viral (28).

La reactivación del virus puede ocurrir o ser inducida por estímulos naturales o artificiales, como ser: parto, transporte, tratamientos inmunosupresores con corticoides, superinfección con otros virus o microorganismos, irradiación ultravioleta, tratamiento con ciclofosfamida, etc. La reactivación inducida por los glucocorticoides (dexametasona) se origina como consecuencia de un mecanismo indirecto vía supresión de funciones de neutrófilos y linfocitos, según indicarían experimentos *in vitro*. Generalmente no se presentan signos clínicos durante la reexcreción de virus latente (18).

La latencia en los alfa herpesvirus involucra el mantenimiento del ADN viral en forma extracromosomal, típicamente en las neuronas de los ganglios sensoriales (trigémino y sacro) (16, 29). En contraste con los 70 u 80 genes virales que se expresan durante una infección

lítica de células bovinas, la expresión de estos genes disminuye drásticamente durante la latencia. Sólo una pequeña región del genoma es activamente transcripta en las neuronas infectadas por virus latente, región denominada «gen relacionado a la latencia (LR)». Los transcriptos originados del gen LR se acumulan en el núcleo de las células neuronales sensoriales. Factores específicos neuronales y genes tempranos inmediatos del BHV-1 regulan positivamente la expresión del gen LR (30).

La principal función de los mecanismos de inmunidad en este tema está relacionada a la recrudescencia de la infección. Animales con niveles bajos de inmunidad específica muestran signos clínicos más severos y excretan mayores niveles de virus luego de la reactivación (18).

La latencia es una de las características principales que condicionan la patogenia del BHV.

PATOGENIA

Una vez en el organismo el virus replica en el sitio de inoculación para luego diseminarse por medio de la sangre, el sistema nervioso o a través de puentes intercelulares y así alcanzar los órganos blanco. En el sistema nervioso periférico el virus avanza sin estar expuesto a la actividad neutralizante de los anticuerpos, igual que cuando lo hace por medio de los puentes intercelulares (18). Algunos autores sugieren que los virus son transportados por los leucocitos (8).

A nivel respiratorio, el virus destruye el epitelio del tracto superior lo que, sumado a la inmunosupresión que provoca en el organismo, favorece el asentamiento de infecciones bacterianas secundarias. Entre otros factores, el BHV-1 inhibe la migración de polimorfonucleares neutrófilos, la citotoxicidad mediada por células y la respuesta mitótica de los linfocitos sanguíneos periféricos, como así también algunas actividades funcionales del macrófago alveolar (18).

IPV/IPB es una típica enfermedad venérea en donde BHV-1 alcanza directamente las células blanco, que son las células de las mucosas de la vulva, vagina y prepucio (18).

En relación al tema del aborto, existen datos experimentales y de campo que sugieren que el virus permanece latente en la placenta, y cuando pasa al feto, si lo infecta, produce lesiones necróticas diseminadas. Bajo ciertas circunstancias aún no determinadas, según esta hipótesis, el virus se reactivaría, invadiría el feto y ocasionaría su muerte (31).

En el caso de las meningoencefalitis, el virus llega al cerebro a través de las ramas maxilar y mandibular del nervio trigémino (18) o bien puede hacerlo a través de los bulbos ol-

fatorios y/o de las meninges a partir del hueso etmoides (32).

Las cepas N569 y A663 (BHV-5) han demostrado causar encefalitis experimentalmente, mientras en circunstancias similares los tipos respiratorio y genital (BHV-1.1/2) no pueden hacerlo (1, 7, 11). El Sistema Nervioso Central (SNC) del bovino posee receptores para todas las variantes del BHV-1 estudiadas, no solo para la cepa nerviosa (33). Sin embargo, un estudio reciente comprobó diferencias entre los BHV 1 y 5 en el gen IE1 y en los genes que codifican las proteínas bTIF y VP8, lo cual podría explicar el tropismo diferencial que caracteriza a estas cepas (34).

Experimentalmente se comprobó que, inoculado por vía intranasal a terneros, el BHV-5 afecta fundamentalmente al sistema nervioso y el BHV-1.1 sólo al aparato respiratorio; y que estos animales se infectan pero no desarrollan enfermedad si están protegidos con calostro con anticuerpos neutralizantes (35).

Las características propias de las cepas y la puerta de entrada al organismo dan como resultado los diferentes signos clínicos y patológicos.

SIGNOS CLÍNICOS Y PATOLÓGICOS

BHV-1 y BHV-5 pueden originar 3 diferentes cuadros clínicos:

a) Enfermedad respiratoria - Aborto:

La IBR es una enfermedad contagiosa y aguda de los bovinos caracterizada por fiebre (40.5-42 °C) y depresión general, descenso en la producción láctea y emaciación. La virosis afecta el tracto respiratorio superior y las lesiones patológicas suelen describirse como rinitis, traqueítis necrótica aguda, faringitis y laringotraqueobronquitis. Luego puede complicarse con una invasión bacteriana secundaria y derivar en una bronconeumonía (8, 18). La histopatología puede revelar la presencia de cuerpos de inclusión, pero éstos no son constantes (18).

Algunos animales con IBR desarrollan también una conjuntivitis uni o bilateral (18), que puede confundirse fácilmente con queratoconjuntivitis causada por *Moraxella bovis* (9). Cuando en el rodeo existen vacas preñadas, la enfermedad puede incluir abortos luego de una incubación de 3 a 6 semanas, principalmente entre el 5° y el 8° mes de preñez (18). Los fetos abortados presentan autólisis, coloración parduzca, tejidos friables y fluidos en las cavidades corporales como hallazgos característicos (36).

b) Enfermedad genital:

Un segundo síndrome causado por BHV-

1 es la IPV en las hembras o la IPB en los machos, que se caracteriza, en el primero de los casos, por una vulva edematosa e hiperémica en donde se observan pequeñas pústulas diseminadas sobre la superficie mucosa, acompañadas a veces con una descarga vaginal mucopurulenta, pues la invasión bacteriana secundaria es una secuela frecuente. La fase aguda de la enfermedad dura 2-4 días y las lesiones desaparecen 10-14 días después (18). En los toros, la sintomatología clínica incluye también el área genital en la forma de inflamación de pene y prepucio (28).

c) Enfermedad nerviosa:

Los signos neurológicos se caracterizan por depresión, anorexia, ptialismo, amaurosis, rechinar de dientes, incoordinación, temblor muscular, ceguera y eventualmente muerte (18). Muchos de los casos tienen un diagnóstico presuntivo de poliencefalomalasia.

La encefalitis usualmente ocurre sin otros signos clínicos de enfermedad por BHV-1 (37).

Aunque los episodios de meningoencefalitis fatal en bovinos jóvenes ya descritos y acaecidos en Australia y Argentina se han asociado al BHV-5, Ludwig (1983), Seal y col. (1985) y d'Offay y col. (1993), todos en América del Norte, encontraron que aislamientos provenientes de animales con signos nerviosos, analizados con enzimas de restricción, tenían un patrón de migración similar al del BHV-1.1 (2). Los hallazgos patológicos en el SNC fueron similares en todos los casos: encefalitis acompañada por marcadas áreas de malasia y leptomeningitis no purulenta. Se observan delgados manguitos perivasculares, gliosis difusa y nodular y citonecrosis.

También se han descrito casos de mastitis, enteritis, metritis, dermatitis, tonsilitis (18) e infecciones sistémicas en animales jóvenes (9) causados por el BHV-1.

El tipo de respuesta inmune desencadenada en el huésped dependerá, en gran medida, de la enfermedad provocada por el Herpesvirus bovino (BHV).

RESPUESTA INMUNE

a) Respuesta inmune inespecífica

El interferón (IFN) tipo 1 aparece tanto en secreciones nasales como vaginales en el bovino expuesto a la infección con BHV-1. Su producción inmediata puede ser importante para la rápida protección local en estadios tempranos de la infección. El BHV-1 es un inductor de IFN muy eficaz, pero no es tan susceptible a él como lo son muchos otros virus (38). Las células NK también incrementan su número luego de la infección por BHV-1. Finalmente, se sabe que *in vitro* el BHV-1 altera la capacidad fun-

cional del macrófago alveolar bovino (18).

b) Respuesta inmune específica

Los anticuerpos neutralizantes, dirigidos contra las glicoproteínas de la envoltura, probablemente tengan importancia en la inmunidad a largo plazo (16). Sin embargo, el papel de los anticuerpos humorales es cuestionable en relación a la prevención de la diseminación del virus, fundamentalmente porque, al igual que otros herpesvirus, el BHV-1 puede escapar de la acción de éstos debido a su progreso a través de puentes intercelulares y dentro de ramas nerviosas. La detección de anticuerpos es posible por medio de la virusneutralización a los 8-12 días pos infección (pi) y persisten 5 años y medio, aunque esta persistencia requiere alguna reestimulación. La actividad neutralizante puede ser también detectada en secreciones nasales y genitales debido a la presencia de inmunoglobulina A (IgA) (18).

Los bovinos recién nacidos se proveen de anticuerpos vía calostro principalmente en las primeras 12 h pos parto (fundamentalmente IgG1) y, si bien no producen una protección absoluta, disminuyen la agresividad de la infección.

La lisis mediada por anticuerpo-complemento participa tempranamente en la infección y puede también ser importante en la fase tardía de recuperación o durante la recrudescencia de infecciones latentes. La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y ADCC facilitada por complemento (ADCC-C) participan también en este proceso. Estos mecanismos son efectivos *in vitro*, pero su funcionalidad *in vivo* aún es especulativa (18).

c) Inmunidad mediada por células (IMC) e inmunoreguladores

La recuperación de las infecciones en donde hay diseminación intercelular del virus está particularmente basada en la IMC, siendo gIV (gD) quien estimula una mayor respuesta. La eliminación de virus depende en gran proporción de los factores mediadores solubles producidos por los linfocitos sensibilizados, tanto las interleuquinas como los IFNs, la linfoxina, el factor quimiotáctico y las prostaglandinas (18).

Las características propias del BHV impiden que el sistema inmune lo elimine por completo del organismo, hecho que juega un papel fundamental en la epizootiología de esta enfermedad.

EPIZOOTIOLOGÍA

El BHV-1 se transmite fácilmente en forma directa de un animal a otro, pues gran cantidad de virus se disemina principalmente por

secreciones respiratorias, oculares y reproductivas de animales infectados (18), pero también puede hacerlo en forma indirecta, a través de personas o equipos (28). El período de incubación varía entre 2 y 6 días, pues depende de la dosis, ruta de inoculación y otros factores (36). Aunque se acepta que, para el caso de la IBR, el virus se disemina en las secreciones nasales por aproximadamente 12-14 días pi (8), se ha recuperado el virus en forma intermitente por un período de hasta 578 días (29).

Otras fuentes importantes de diseminación son el semen (18) y la transferencia embrionaria (39). Se ha podido comprobar que toros serológicamente positivos sin sintomatología son portadores del virus, el que se ha logrado aislar de muestras de semen congelado (40, 41), incluso 12 meses después de su almacenamiento a -196° C (9). Sin embargo, el riesgo de transmisión de BHV-1 en hembras fertilizadas con semen de toros seropositivos proveniente de centros de inseminación artificial no se considera muy alto, y el tratamiento del semen infectado -con gammaglobulinas de suero hiperinmune (42) o con una solución de tripsina (Bielanski y col., 1988)- puede reducir el riesgo de transmisión de BHV-1 en la inseminación artificial.

El bovino es el principal reservorio del BHV-1; sin embargo, muchas especies de ruminantes -caprinos, ovinos, etc.-, e incluso el cerdo, son susceptibles a este virus (18). El conejo, por su parte, es la especie que actualmente se estudia como modelo experimental (43).

El diagnóstico con técnicas de avanzada permitirá, en el futuro, conocer con mayor precisión la epidemiología de esta enfermedad.

DIAGNÓSTICO

a) Aislamiento viral:

Esta técnica se realiza en cultivos celulares, identificándose luego al agente por medio de otras técnicas inmunológicas (18).

b) Microscopía electrónica:

Es una buena alternativa para el diagnóstico rápido, pero necesita de confirmación por microscopía inmunoelectrónica (18).

c) Inmunofluorescencia:

Es una técnica muy empleada (1), cuya principal ventaja es la rapidez del diagnóstico, el cual no necesita posterior caracterización viral. Puede, en desventaja, ser algo menos sensible que el aislamiento (18).

d) Inmunohistoquímica:

Estos procedimientos, fundamentalmente empleando anticuerpos monoclonales, han probado ser tanto o más sensibles que las técnicas convencionales (como el aislamiento viral) y reúnen algunas ventajas en su haber, como rapidez en el diagnóstico y el no requeri-

miento de cultivos celulares (44).

e) Hibridización de ácidos nucleicos:

Esta técnica ha sido investigada por Giavedoni y col., y demostró ser específica y altamente sensible (44).

f) Hemoaglutinación pasiva (HAP):

Esta prueba evita la utilización de cultivos celulares y permite una rápida ejecución (45). Sin embargo, es importante mencionar que con esta técnica existen problemas de especificidad y por eso son más aconsejables las pruebas inmunológicas.

g) ELISA:

Es una técnica que ha reemplazado rápidamente a las demás pruebas serológicas, debido a que prescinde del uso de cultivo celular y a que ha demostrado ser sensible, rápida y económica. Se ha informado del estudio de muchas variantes de esta técnica, que incluyen: ELISA competitivo, ELISA «sandwich» y el desarrollo de un ELISA para detección de antígenos en muestras de leche (18). También se ha desarrollado experimentalmente un «ELISA blocking» que permite distinguir animales infectados de otros inmunizados con una cepa mutante gIII (gC) negativa; el desarrollo de una prueba de estas características facilitaría la implementación de un programa de control/erradicación (46).

La estandarización de la técnica es fundamental y se disponen de «kits» comerciales ya estandarizados (18); sin embargo, se comprobaron diferencias de sensibilidad entre ellos (47).

h) Virusneutralización:

Es la técnica más comúnmente utilizada para la detección de anticuerpos específicos a BHV-1 a lo largo del tiempo (18).

i) PCR (reacción en cadena de la polimerasa):

Vilcek y col. comunican el desarrollo de una prueba de este tipo para la detección de BHV-1, basada en la utilización de «primers» que reconocen al gen que codifica a la glicoproteína I (gB). Esta prueba fue capaz de detectar el virus a partir de muestras clínicas, suero fetal bovino contaminado y muestras de semen (48). Otros investigadores obtuvieron también óptimos resultados empleando «primers» de la región genética codificante de la timidina quinasa (Tk), y la prueba mostró ser de valor para la detección del BHV-1 en cultivos celulares (49). Distintos autores concluyen que la prueba de PCR es al menos tan sensible como el aislamiento viral y es una práctica alternativa interesante para la detección rápida del BHV-1 (48, 50). Estos estudios continúan en la actualidad e incluso se ensayan para diferenciar el BHV-1 del BHV-5 (51, 52).

j) Análisis con enzimas de restricción (REA):

El estudio con enzimas de restricción del

BHV-1 ha sido extensamente utilizado como técnica diagnóstica, dado que la estabilidad de los genomas del BHV-1 permanece sin afectarse por pasajes *in vitro* en células huésped homólogas o por latencia (17). Sin embargo, Whetstone y col. comprobaron cambios en el genoma de una cepa vacunal de BHV-1 (virus vivo modificado) luego de un pasaje *in vivo*, al recuperarse el virus durante la infección aguda, luego de la reactivación de la latencia y pos superinfección (53).

El desarrollo de estas y otras posibles técnicas de diagnóstico es fundamental para lograr la prevención, el control y la erradicación de esta enfermedad.

PREVENCIÓN, CONTROL Y ERRADICACIÓN

Una de las principales diferencias para el control de esta enfermedad es que los animales infectados transportan al virus de por vida, ya que el BHV permanece integrado por un período indefinido en células preferenciales (28).

En primer lugar es necesario definir la decisión de controlar la enfermedad clínica o eliminar la infección. La vacunación protege contra la primera pero no contra la segunda. Si se decide vacunar se debe considerar que la vacunación no previene la superinfección con cepas de campo, el estado inmunitario que provee una vacuna influye en la reexcreción de virus latente, la posibilidad de eventos tales como recombinación entre cepa vacunal y de campo y la reversión a cepa virulenta no puede ser excluida, y salvo que existan marcadores específicos en las cepas vacunales o diferentes patrones de restricción de ADN, los anticuerpos resultantes de la vacuna no permiten la utilización de análisis serológicos que diferencien cepas vacunales de cepas de campo en los programas de control y erradicación.

MEDIDAS DE CONTROL

1) Inmunización activa con vacuna viva atenuada, 2) Inmunización activa con vacuna inactivada, 3) Inmunización activa con vacuna polivalente, 4) Inmunización pasiva, vía la administración de calostro, suero inmune o preparaciones de gammaglobulinas y 5) Quimioterapia con drogas inhibitoras de la síntesis de macromoléculas, de la replicación viral, del ADN o de la síntesis proteica (28).

Vacunas

Desde hace ya mucho tiempo existen comercialmente vacunas convencionales contra este virus y se utilizan en muchos países en sus distintas variantes: a virus vivo modificado o inactivado, mono o polivalente. Dependiendo de la capacidad del producto de inducir inmunogenicidad, la vacuna puede ser efectiva en

reducir las manifestaciones clínicas y en consecuencia las pérdidas económicas, pero no lo logra proteger completamente de la infección.

Las vacunas vivas modificadas producidas a partir de virus de la IBR son también efectivas contra IPV/IPB y viceversa. Aquellas producidas con virus de la IPV/IPB eventualmente no son abortogénicas (18).

a) Vacunas vivas modificadas para aplicación parenteral

Las ventajas más importantes de este tipo de vacunas son su forma de administración y la posibilidad de realizar combinaciones con otros virus (18). La necesidad de revacunación está sujeta a opiniones diversas, pues se ha comprobado que la duración de la inmunidad pos vacunación intramuscular (IM) persiste de 3 a 6 años, y ocurre algo similar pi con virus de campo (36).

Su empleo también tiene sus desventajas. La principal de ellas es la imposibilidad de aplicarlas a vacas preñadas, dado el peligro de aborto (18, 31, 36). También se ha informado de la aparición de enfermedad en animales inoculados con vacunas atenuadas, lo que en definitiva obliga a evaluar su uso al momento de proponerla como potencial vacuna (32, 54).

b) Vacunas vivas modificadas para aplicación intranasal

Estas vacunas confieren una rápida protección local sin generalización del virus. La gran ventaja de este tipo de vacunas, comparada con aquellas de aplicación parenteral, es su seguridad para las hembras preñadas (18, 31). El empleo de mutantes termosensibles (Ts) como cepa vacunal es aún más ventajoso, pues esta característica garantiza la replicación estrictamente local y permite que las cepas vacunales puedan ser distinguidas de las cepas de campo gracias al marcador Ts (18).

Sin embargo, las vacunas vivas modificadas para aplicación intranasal también tienen sus desventajas, relacionadas principalmente con la impracticidad de la vía de administración, la transmisión de virus vacunal a animales no inmunizados y algunas posibles reacciones adversas, como fiebre o descenso temporario de la producción láctea (18). Se han descrito signos neurológicos en bovinos jóvenes 7-10 días después de una segunda vacunación por vía intranasal de una vacuna polivalente (32) y Nettleton y col (1984) demostraron que la recombinación entre una cepa vacunal mutante Ts y una cepa de campo puede ocurrir (18).

c) Vacunas vivas modificadas producidas por ingeniería genética

Estudios realizados confirmaron que la

vacunación de bovinos (incluso hembras preñadas) con una cepa de BHV-1 mutante Tk negativa protegía contra el aborto, reducía los signos clínicos y la diseminación viral después del desafío (18, 31), sin provocar efectos deletéreos significativos (55). Otros autores demostraron que las mutantes con delección del gen de la glicoproteína E (gE) son buenas candidatas como vacuna viva modificada (56, 57). Estas vacunas pueden ser distinguidas de las cepas de campo, pero el problema concerniente al establecimiento de latencia por la vacuna o el virus salvaje no ha sido resuelto (18).

d) Vacunas inactivadas

Se han producido vacunas de este tipo con tratamientos con formalina, etanol o etilnamina y por inactivación con calor o luz UV; pero no son eficientes sin adyuvante. Las ventajas de estos productos radica en el hecho que no provocan aborto ni diseminación viral luego de la vacunación y el establecimiento de infección latente por la cepa vacunal es imposible, además de permitir la fabricación de vacunas múltiples, pues no hay interferencia con la producción de anticuerpos contra otro antígeno. Son perfectamente toleradas y, a pesar que la eficacia de estas vacunas está sujeta a controversia (18, 58), según algunos resultados concretos serían efectivas para el control de la infección con BHV-1 (1).

Las desventajas que presentan, por su parte, incluyen la observación de reacciones de hipersensibilidad que pueden ser fatales (anafilaxia), urticaria, nódulos en la piel y fiebre luego de la vacunación. También es imposible diferenciar animales infectados de vacunados.

La duración de la protección alcanzada con la administración de estos productos es desconocida, pero en todos los casos son necesarios dos ciclos de vacunación y revacunaciones anuales (18, 36).

e) Vacunas a subunidades

Los problemas concernientes a las vacunas vivas modificadas y las vacunas inactivadas impulsaron la producción de vacunas que contienen sólo determinados componentes virales inmunogénicos (18). Este tipo de productos tiene las siguientes ventajas: no contiene virus vivo y por lo tanto no puede ser transmitido a otros animales, causar aborto o establecer infección latente; podría, previo empleo de pruebas serológicas, permitir la diferenciación de animales vacunados de no vacunados; y sería posible su aplicación a animales jóvenes aún en presencia de anticuerpos calostrales (58).

En cuanto a la fabricación de recombinantes, se han logrado productos de este tipo en células de mamífero e insecto, incorporando

a ellas una determinada secuencia codificante del virus (23, 59).

f) Vacunación en presencia de anticuerpos calostrales

La duración de la inmunidad calostrál varía de 1 a 6 meses y depende del nivel inicial de anticuerpos que se transfiere al ternero (9). Como los anticuerpos maternos pueden interferir con la producción activa de anticuerpos luego de la vacunación, es necesaria una revacunación luego de los seis meses de edad. El valor de la protección producida por los anticuerpos maternos es, sin embargo, motivo de controversia (18, 36).

Durante una epizootia, la administración de calostro con niveles adecuados de anticuerpos neutralizantes del BHV-1 a animales recién nacidos puede ser un procedimiento recomendable, mientras que la vacunación con virus de la IBR vivo modificado por vía IM a esos mismos animales que reciben un nivel de anticuerpos calostrales desconocido puede resultar en pérdidas innecesarias de terneros (54).

TRATAMIENTOS

En la rinotraqueítis la terapia debe estar dirigida a controlar las complicaciones bacterianas y/o fúngicas, y para ello se emplean antibióticos de amplio espectro (9, 36). La IPV/IPB puede ser tratada localmente con antisépticos o con ungüentos de penicilina-estreptomina (36).

Drogas antivirales: muchas de ellas, efectivas *in vitro*, no lo son a dosis atóxicas *in vivo*. El uso de IFN, por su parte, se dificulta dado su costo económico (18).

ERRADICACIÓN

Según autores europeos, sólo olvidando para siempre la vacunación se puede pensar en erradicar la enfermedad. Para mantener el «status» de libre es absolutamente esencial adoptar medidas higiénicas, tales como supervisión de los movimientos de los animales, cuarentena (28) y análisis serológicos anuales con eliminación de los animales seropositivos (60).

Sin embargo, en países con alta incidencia de la infección es imposible pensar en no vacunar. En estos casos, las vacunas inactivadas comercialmente disponibles logran controlar la enfermedad; la erradicación con vacunación sería factible con la llegada de vacunas a subunidades como las previamente descritas, que nos permitirían distinguir animales vacunados de infectados.

Es importante que recordemos que la vacunación no prevé la reactivación en casos en donde el balance nutricional y la inmunidad están alterados. Se admite que la inmunidad vacunal protege contra la reinfección con la cepa virulenta de campo pero no contra la reactivación de una infección latente en el mismo animal (28).

Consideramos necesario desarrollar en el futuro estudios epidemiológicos, clínicos y patológicos que ayuden a comprender el comportamiento y distribución de los BHV-1 y BHV-5. Esta información permitirá, profilaxis mediante, controlar las enfermedades que a ellos se asocian y que tanto perjuicio causan a la producción bovina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schudel AA, Rodríguez M y Carrillo BJ. Biotecnología en el diagnóstico, caracterización y prevención de la encefalitis bovina a BHV-1. CICV - INTA - Castelar, 1987.
2. d'Offay JM, Mock RE, Fulton RW. Isolation and characterization of encephalitic bovine herpesvirus type 1 isolates from cattle in North America. *Am J Vet Res* 1993; 54, 4: 534-539.
3. Suárez Heinlein A, Metzler AE, Weiblen R, Berrios P, Schudel AA and Rodríguez M. Molecular Characterization of South American Bovine Herpesvirus-1 Isolates with Monoclonal Antibodies and SDS-Page. *J Vet Med B*. 1993; 40: 125-130.
4. Hochstein-Mintzel V, Riedemann S, Reinhardt G, Niedda M. Rinotraqueítis Infecciosa Bovina. Relación entre títulos de anticuerpos y dos índices reproductivos en un plantel lechero. *J Vet Med B*. 1986; 33:697-703.
5. Studdert MJ. Bovine encephalitis herpesvirus. *Vet Rec* 1989; 125, 58 II:584.
6. Mc Kercher DG Bibrack B, Richards WPC. Effects of the Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus on the Central Nervous System of Cattle. *JAVMA* 1970; 156, 10:1460-1467.
7. Schudel AA, Carrillo BJ, Wyler R and Metzler AE. Infectious of Calves with Antigenic Variants of Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) and Neurological Disease. *J Vet Med B* 1986; 33: 303-310.
8. Yates WDG. A Review of Infectious Bovine Rhinotracheitis, Shipping Fever Pneumonia and Viral-Bacterial Synergism in Respiratory Disease of Cattle. *Can J comp Med* 1982; 46: 225-263.
9. Blood DC, Radostits OM, Henderson JA. Rinotraqueítis bovina infecciosa (nariz roja) (RIB). En: *Medicina Veterinaria*. Nva. 6º ed. Editorial Interamericana. México, D.F. 1988: 873-879.
10. Büchen-Osmond C.. Alphabetical List of ICTV approved Virus Families and Genera. Created April, 1995. Última actualización: 8 de abril de 1998.
11. Metzler AE, Schudel AA and Engels M. Bovine Herpesvirus 1: Molecular and Antigenic Characteristics of Variants Viruses Isolated from Calves with Neurological Disease. *Arch Virol*. 1986; 87: 205-217.
12. Pidone CL. Tesis. Estudio comparativo de cepas de virus herpes bovino-1 aisladas en la Argentina mediante patrones de restricción de ADN. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias, 1995.
13. Bratanich AC, Sardi SI, Smitsaart EN and Schudel AA. Comparative Studies of BHV-1 Variants by *In vivo* - *In Vitro* Tests. *J Vet Med B*. 1991; 38: 41-48.
14. Collins JK, Ayers VK, Whetstone CA and van Drunen Littel-van den Hurk S. Antigenic differences between the major glycoproteins of bovine herpesvirus type 1.1 and bovine encephalitis herpesvirus type 1.3. *J of Gen Virol* 1993; 74: 1509-1517.
15. Seal BS, Whetstone CA. Immediate-Early Gene-Expression and Gene-Mapping Comparisons Among Isolates of Bovine Herpesvirus-1 and Herpesvirus-5. *Vet Microbiol* 1994; 38: 4:369-384.
16. Studdert MJ. Bovine herpesvirus. En: *Encyclopedia of Virology*. Edited by R.G. Webster and A. Granoff (Academic Press), Great Britain, 1994; 1: 155-158.
17. Engels M, Giuliani C, Wild P, Beck TM, Loepfe E and Wyler R. The genome of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) strains exhibiting a neuropathogenic potential compared to known BHV-1 strains by restriction site mapping and cross-hybridization. *Virus Research* 1986; 6 [86/87]:57-73.
18. Wyler R, Engels M, Schwyzer M. Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV1). En: G. Wittman and Y. Becker (ed.), *Herpesvirus diseases of cattle, horses, and pigs*. Developments in veterinary virology ser. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1989: 1-72.
19. Seal BS, St. Jeor SC and Lee Taylor RE. Restriction Endonuclease Analysis of Bovine Herpesvirus 1 DNA and Nucleic Acid Homology between Isolates. *J gen Virol* 1985; 66: 2787-2792.
20. Misra V, Babiuk LA, and Darcel C le Q. Analysis of Bovine Herpes Virus-Type 1 Isolates by Restriction Endonuclease Fingerprinting. *Archives of Virology* 1983; 76: 341-354.
21. Liang X, Babiuk LA, van Drunen Littel-van den Hurk S, Fitzpatrick DR; Zamb TJ. Bovine Herpesvirus 1 Attachment to Permissive Cells Is Mediated by Its Major Glycoproteins gI, gII, and gIV. *Journal of Virology* 1991; 65, 3: 1124-1132.
22. Chase CCL Letchworth GJ. Bovine Herpesvirus-1 GIV-Expressing Cells Resist Virus Penetration. *Journal of General Virology* 1994; 75: Part 1: 177-181.
23. van Drunen Littel-van den Hurk S, van Donkersgoed J, Kowalski J, van den Hurk JV, Harland R, Babiuk LA and Zamb TJ. A subunit gIV vaccine, produced by transfected mammalian cells in culture, induces mucosal immunity against bovine herpesvirus-1 in cattle. *Vaccine* 1994; 12, 14: 1295-1302.
24. Okazaki K, Matsuzaki T, Sugahara Y, Okada J, Hasebe M, Iwamura Y, Ohnishi M, Kanno T, Shimizu M, Honda E, Kono Y. BHV-1 Adsorption Is Mediated by the Interaction of Glycoprotein gIII with Heparinlike Moiety on the Cell Surface. *Virology* 1991; 181: 666-670.
25. Chase CCL, Carter-Allen K, and Letchworth GJ. The Effect of Bovine Herpesvirus Type 1 Glycoproteins gI and gIII on Herpesvirus Infections. *J Gen Virol* 1989; 70: 1561-1569.
26. Narita M, Inul S, Nanba K and Shinizu Y. Detection of Virus Particles in Trigeminal Ganglion cells in a Calf Recurrently Infected with Infectious Bovine Rhinotracheitis. *Jpn J Vet Sci* 1983; 45 (5): 691-693.
27. Homan EJ, Easterday BC. Isolation of Bovine Herpesvirus-1 from Trigeminal Ganglia of Clinically Normal Cattle. *Am J Vet Res* 1980; 41, 8: 1212-1213.
28. Thielscher H and Huth F. IBR/IPV: Vaccination or Culling?. *Landbauforschung Völknerode* 1986; 36: 171-176.
29. Studdert MJ. A brief review of studies of bovine and equine herpesvirus. *Aust Vet J* 1989; 66, 12: 401-402.

30. Bratanich AC, Jones CJ. Localization of cis-Acting Sequences in the Latency-Related Promoter of Bovine Herpesvirus 1 Which are Regulated by Neuronal Cell Type Factors and Immediate-Early Genes. *Journal of Virology* 1992; 66, 10: 6099-6106.
31. Miller JM, Whetstone CA, Bello LJ, Lawrence WC. Determination of ability of a thymidine kinase-negative deletion mutant of bovine herpesvirus-1 to cause abortion in cattle. *Am J Vet Res* 1991; 52, 7:1038-1043.
32. Furuoka H, Izumida N, Horiuchi M, Osame S, Matsui T. Bovine herpesvirus meningoencephalitis association with infectious bovine rhinotracheitis (IBR) vaccine. *Acta Neuropathol* 1995; 90: 565-571.
33. Bagust TJ, Clark L. Pathogenesis of Meningoencephalitis produced in Calves by Infectious Bovine Rhinotracheitis Herpesvirus. *J Comp Path* 1972; 82:375-383.
34. Bratanich AC, Weber EL, Giglio C, Lager IA. Caracterización de genes de HVB que regulan su patogenicidad. *Rev Med Vet* 1996; 77, 4:277.
35. Belknap EB, Collins JK, Ayers VK, Schultheiss PC. Experimental-Infection of Neonatal Calves with Neurovirulent Bovine Herpesvirus Type-1.3. *Veterinary Pathology* 1994; 31 (3): 358-365.
36. Kahrs RF. Infectious Bovine Rhinotracheitis: A Review and Update. *JAVMA* 1977; 171 (10): 1055-1064.
37. Brake F, Studdert MJ. Molecular epidemiology and pathogenesis of ruminant herpesviruses including bovine, buffalo and caprine herpesvirus 1 and bovine encephalitis herpesvirus. *Aust Vet J* 1985; 62 (10): 331-334.
38. House JA. Prevención y control de la rinotraqueítis infecciosa bovina. *Bol. of Sanit. Panam.* 1980; 88 (1): 35-43
39. Bielanski A, Dubuc C. In-Vitro Fertilization and Culture of Ova from Heifers Infected with Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1). *Theriogenology* 1994; 41 (6):1211-1217.
40. Bielanski A, Loewen KG and Hare WCD. Inactivation of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) from in vitro infected bovine semen. *Theriogenology* 1988; 30, (4):649-656.
41. van Oirschot JT, Straver PJ, van Lieshout JAH, Quak J, Westenbrink F, van Exsel ACA. A subclinical infection of bulls with bovine herpesvirus type 1 at an artificial insemination centre. *The Veterinary Record* 1993; 132:32-35.
42. van Oirschot JT. Bovine Herpesvirus 1 In Semen of Bulls and the Risk of Transmission: a Brief Review. *Veterinary Quarterly* 1995; 17, (1):29-33.
43. Silva AM, Brum MCS, Canto MC, Weiblen R, Roehe PM, Flores EF. Pathogenesis of Meningoencephalitis in Weanling Rabbits by Bovine Herpesvirus type-5 (BHV-5). *Simpósio Internacional sobre Herpesvirus Bovino (tipo 1 y 5) e virus da Diarrea Viral Bovina (BVDV)*, 1998.
44. Giavedoni LD, Ruiz M, Fijtman N, Schudel AA and Rodríguez M. Rapid Diagnosis of Bovine Herpesvirus Encephalitis: Comparison of Nucleic Acid Hybridization and Immunoperoxidase Methods using Clinical Samples. *J Vet Med B.* 1988; 35: 280-285.
45. González ET, Oliva GA, Etcheverrigaray ME, Schudel AA, Nosetto E. Aplicación de las técnicas de hemoaglutinación pasiva (HAP) e inmunofluorescencia indirecta en el diagnóstico de rinotraqueítis infecciosa bovina. *Rev Med Vet (Argentina)* 1985; 66 (21):26-30.
46. Kit S, Otsuka H and Kit M. Blocking ELISA for distinguishing infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV)-infected animals from those vaccinated with a gene-deleted marker vaccine. *Journal of Virological Methods* 1992; 40:45-56.
47. Kramps JA, Quak S, Weerdmeester K and van Oirschot JT. Comparative study on sixteen enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to bovine herpesvirus 1 in cattle. *Vet Microbiol* 1993; 35:11-21.
48. Vilcek S, Nettleton PF, Herring JA, Herring AJ. Rapid Detection of Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) Using the Polymerase Chain-Reaction. *Vet Microbiol* 1994; 42:1:53-64.
49. Kibenge FSB, Harris LM, McKenna PK, Wadowska D, Yason CV. Amplification of Strains of Bovine Herpesvirus-1 by Use of Polymerase Chain-Reaction with Primers in the Thymidine Kinase Region. *Am J Vet Res* 1994; 55 (9):1206-1212.
50. Xia J, Yason C, Kibenge S. Comparison of Dot Blot Hybridization, Polymerase Chain reaction, and Virus Isolation for Detection of Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) in Artificially Infected Bovine Semen. *Can J Vet Res* 1995; 59: 102-109.
51. Kataria R, Tiwari K, Gupta P, Mehrotra M, Rai A, Bandyopadhyay S. Detection of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) genomic sequences in bovine semen inoculated with BHV-1 by polimerasa chain reaction. *Acta virologica* 1997; 41: 311-315.
52. Ashbaugh K, Thompson K, Belknap E, Schultheiss P, Chowdury S, Collins J. Specific detection of shedding and latency of bovine herpesvirus 1 and 5 using a nested polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 1997; 9: 387-394.
53. Whetstone C, Miller J, Bortner D and Van Deer Maaten M. Changes in the restriction endonuclease patterns of four modified-live infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV) vaccines after one passage in host animal. *Vaccine* 1989; 7:527-532.
54. Bryan LA, Fenton RA, Misra V, Haines DM.. Fatal, generalized bovine herpesvirus type-1 infection associated with a modified-live infectious bovine rhinotracheitis parainfluenza-3 vaccine administered to neonatal calves. *Can Vet J* 1994; 35:223-228.
55. Smith GA, Young PL, Rodwell BJ, Kelly MA, Storie GJ, Farrah CA, Mattick JS. Development and Trial of a Bovine Herpesvirus-1-Thymidine Kinase Deletion Virus as a Vaccine. *Australian Vet J* 1994; 71 (3):65-70.
56. Kaashoek MJ, Moerman A, Madic J, Rijsewijk FAM, Quak J, Gielkens ALJ, Vanoirschot JT. A Conventionally Attenuated Glycoprotein E-Negative Strain of Bovine Herpesvirus Type 1 Is an Efficacious and Safe Vaccine. *Vaccine* 1994; 12 (5):439-444
57. Kaashoek MJ, Moerman A, Madic J, Weerdmeester K, Marisveldhuis M, Rijsewijk FAM, Vanoirschot JT. An inactivated vaccine based on a

glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus 1 induces protective immunity and allows serological differentiation. *Vaccine* 1995; 13 (4): 342-346.

58. Lupton HW and Reed DE. Evaluation of Experimental Subunit Vaccines or Infectious Bovine Rhinotracheitis. *Am J Vet Res* 1980; 41, 3: 383-390.

59. van Drunen Littel-van den Hurk S, Parker MD, Massie B, van den Hurk JV, Harland R. Babiuk LA and Zamb TJ. Protection of cattle from BHV-1 infection by immunization with recombinant glycoprotein gIV. *Vaccine* 1993; 11 (1):25-35.

60. Ackermann M, Müller HK, Bruckner L., and Kihm U. Eradication of infectious bovine rhinotracheitis in Switzerland: review and prospects. *Vet Microbiol* 1990; 23: 365-370.